

A longitudinal cohort study uncovers plasma protein biomarkers predating clinical onset and treatment response of rheumatoid arthritis

[Nat Commun. 2025 Jul 21;16(1):6692]

膠原病ジャーナルクラブ 2025.10.21

田口 宏和

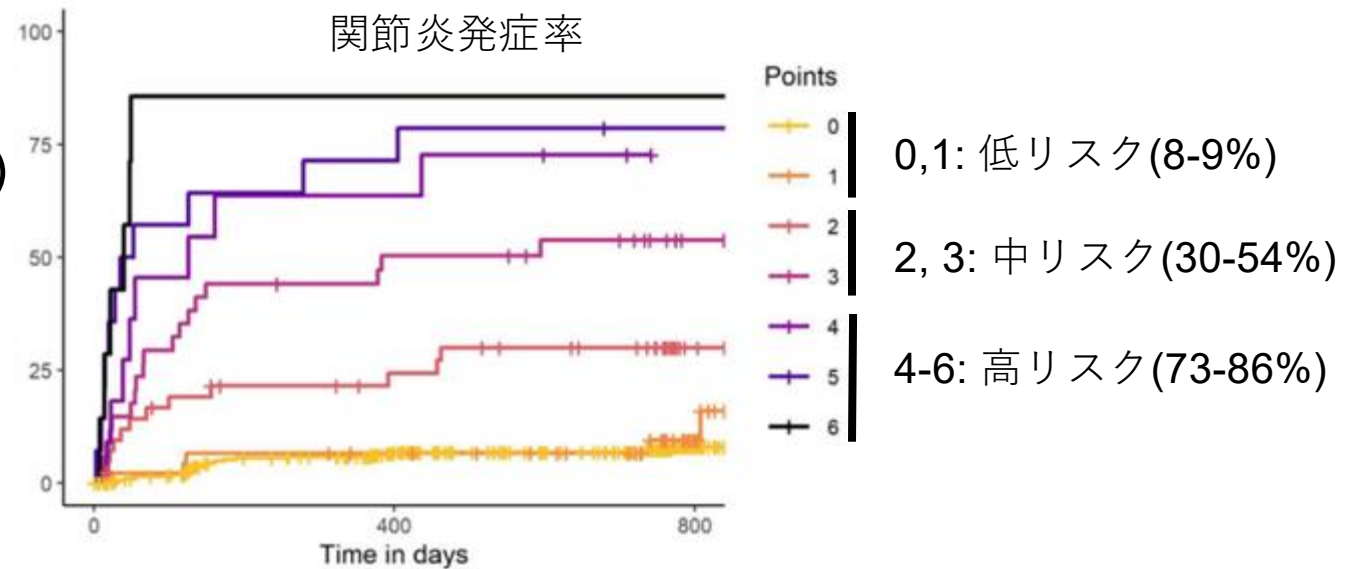
背景 1: 関節リウマチには前臨床段階がある

1. 遺伝的に感受性がある状態から自己免疫を発現(無症候).
2. 明確な関節リウマチと言えない段階(自己抗体のみ陽性, 関節痛のみなど).
3. 関節リウマチの発症.

Eur J Immunol. 2014 Jun;44(6):1593-9.

- 上記の2の時期でリスクを層別化するスコアリングが報告されている.

1. aCCP抗体陽性(2点)
2. MRIで2箇所以上の無症候性関節炎(2点)
3. RF陽性(1点)
4. MRIでのMCP伸筋腱周囲炎(1点)



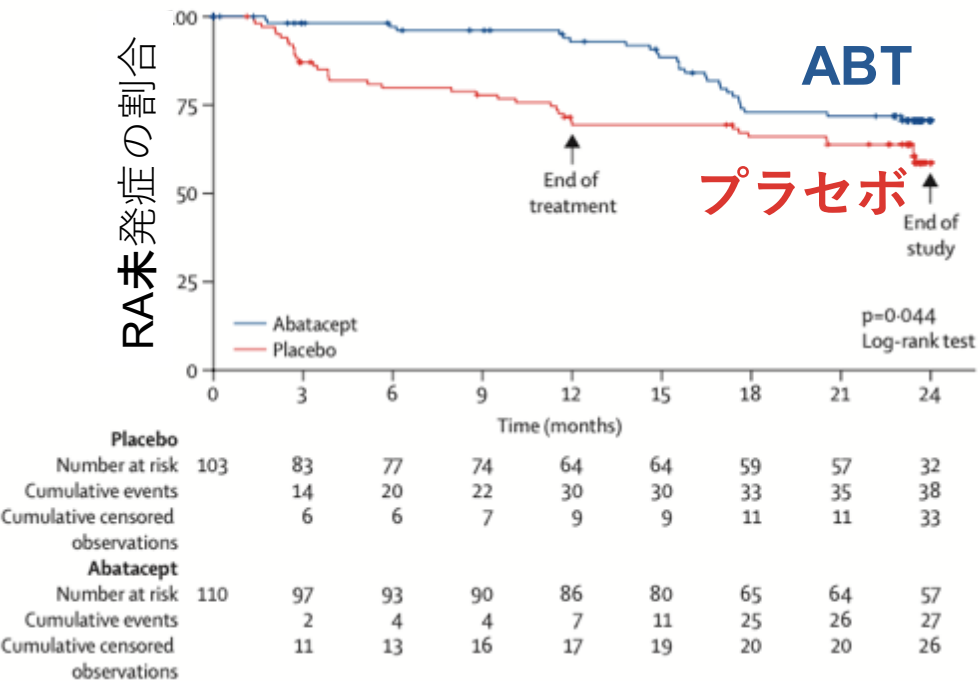
Lancet. 2022 Jul 23;400(10348):283-294.

- 2の時期で介入できないか(予防), どのような因子が重要か(予測)の探索が行われている.

背景 2: 高リスク者を対象としたRAへの進展予防

■ ABT(RCT)

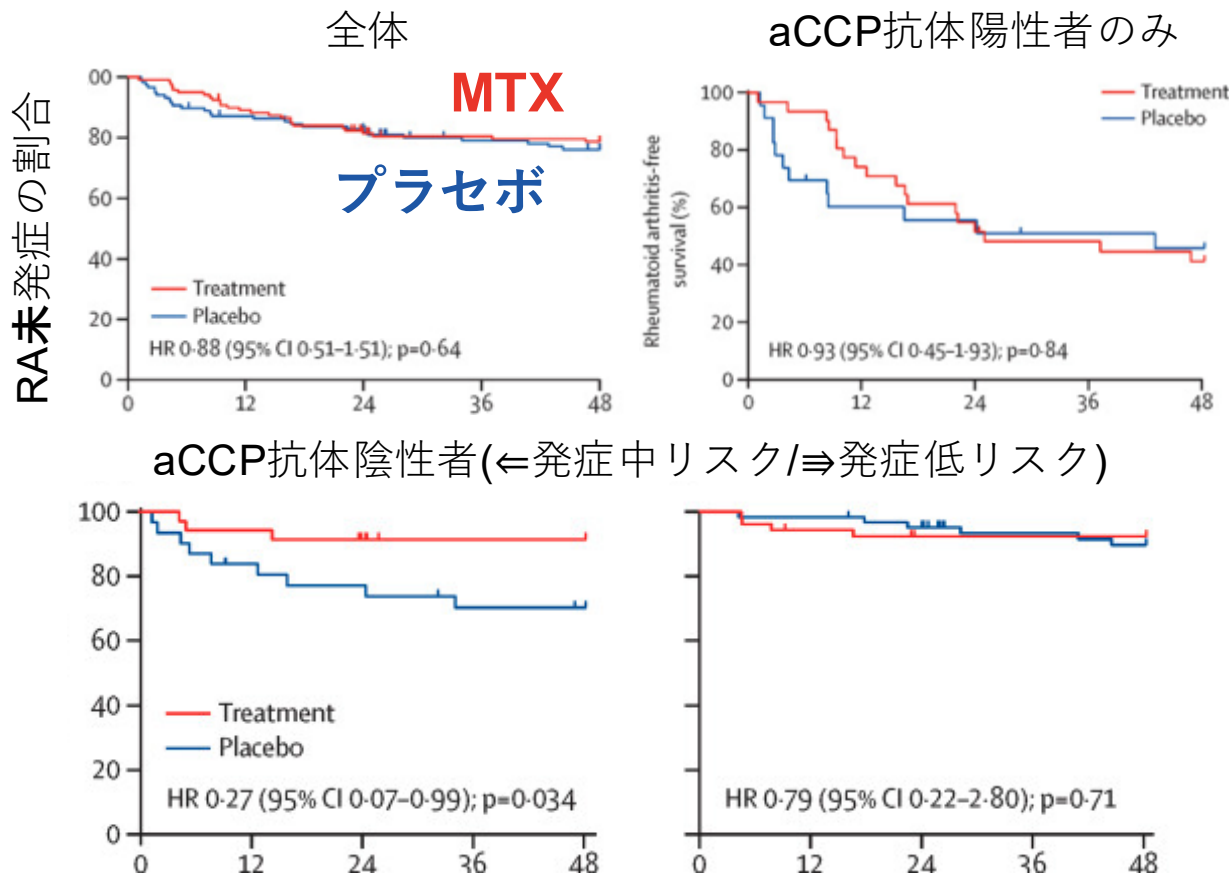
- RF/aCCP抗体陽性で炎症性関節痛がある(MRIで炎症があるのはO.K).



- 12, 24ヶ月で共に差があるが, 24ヶ月時点ではQOL指標に差がなくなる.
- 重篤な有害事象の発症に差はない.

■ MTX(RCTの長期解析)

- 関節痛または無症状の関節炎(MRI)がある(抗体の有無は問わない). MTX 25mg/w.



- リスク層別化が重要である.

背景 3: リスクのある状態の中でも更に層別化が必要である

■ RA高罹患民族への長期前向き観察

- 自己抗体陽性者の多くは関節リウマチを発症しない. 抗CCP抗体陽性者の71%が5年後には陰性.

Arthritis Rheumatol. 2019 Sep;71(9):1494-1503.

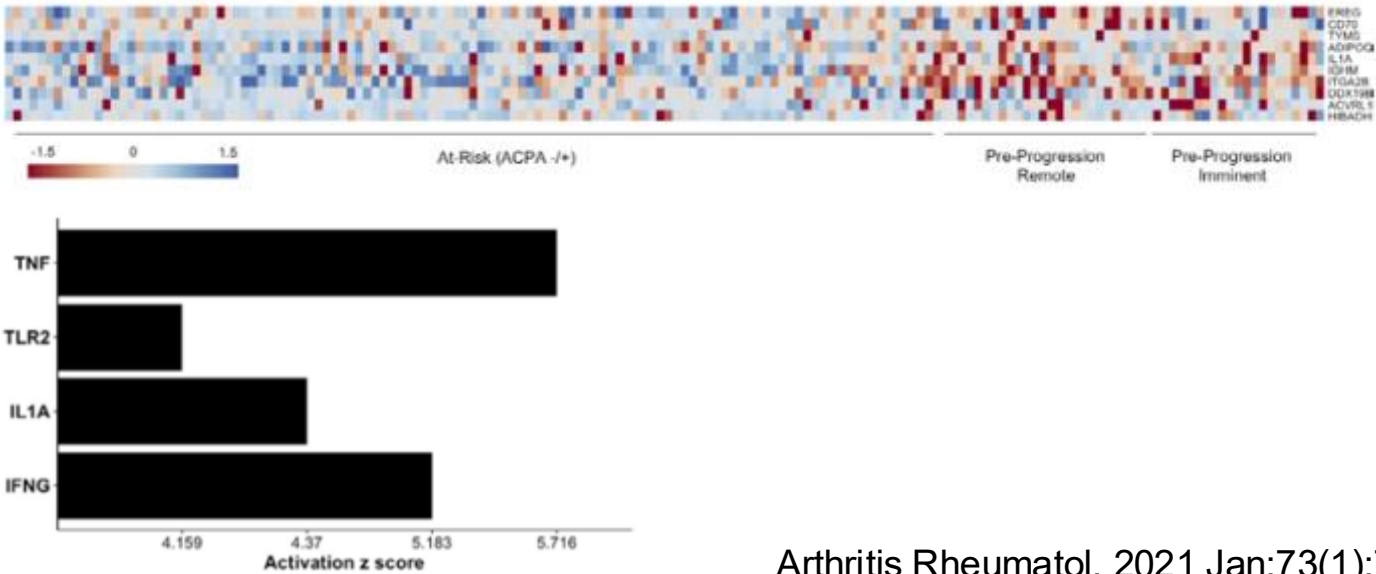
■ 後にRAを発症する集団は, リスクのある集団の中でも異なるproteomeを持つ(上と同じ研究グループの報告).

リスクのある集団

	aCCP(-)	aCCP(+)	Pre-RA
Age, mean ± SD years	41.3 ± 14.1	43.3 ± 12.9	31.4 ± 11.8
Age range, years	18.7–66.2	20.6–63.5	20.1–65.4
Female, %	58.7	76.2	73.3
BMI, mean ± SD kg/m ²	29.6 ± 7.4	30.9 ± 7.3	26.5 ± 7.2
CRP, mean ± SD mg/dl	4.2 ± 5.0	6.7 ± 8.6	4.1 ± 3.8
ACPA positive, %	0	100	73.3
RF positive, %	14.9	27.0	53.3
Median time to arthritis onset, months	–	–	30.8
Hand joint pain, %	35.7	30.0	20.0
Joint pain excluding hands, %	71.4	69.5	60.0
Hand joint swelling, %	54.8	43.3	33.3
Joint swelling excluding hands, %	38.1	45.0	40.0
Morning hand stiffness, %	58.1	63.3	40.0
Morning stiffness excluding hands, %	72.1	65.0	60.0

- Proteome: 発症前に特定の経路が亢進している

- 後にRA発症する集団(n=17)の発症前31ヶ月時点の血液
- 後にRA発症する集団(n=17)発症前24ヶ月時点の血液
- RAハイリスク集団(高罹患民族)



Arthritis Rheumatol. 2021 Jan;73(1):78-88.

方法 1

- 中国単施設のCohort.
 - 対象患者: 血漿採取の前少なくとも6ヶ月はcsDAMRDsで治療がない,
 - 関節リウマチ(n=278): 2010ACR/EULAR分類基準を満たす.
 - RAハイリスク(n=60): Systemic autoimmunity associated with RA*を満たす.
 - 健常人(n=99): 上記と年齢/性別が一致し, 自己免疫性疾患の既往がない.
 - 対象者の保存血漿を用いた解析
 - 標的プロテオーム解析: pathway解析はDAVIDを用いた.
 - 抗CCP抗体価(電気化学発光免疫測定法).
 - 臨床的な評価指標: DAS28-CRP
-

■ Systemic autoimmunity associated with RA¹

- 臨床症状発現に先立って様々な身体部位に異常が認められる大雑把な段階.

■ その他ざっくりいうと

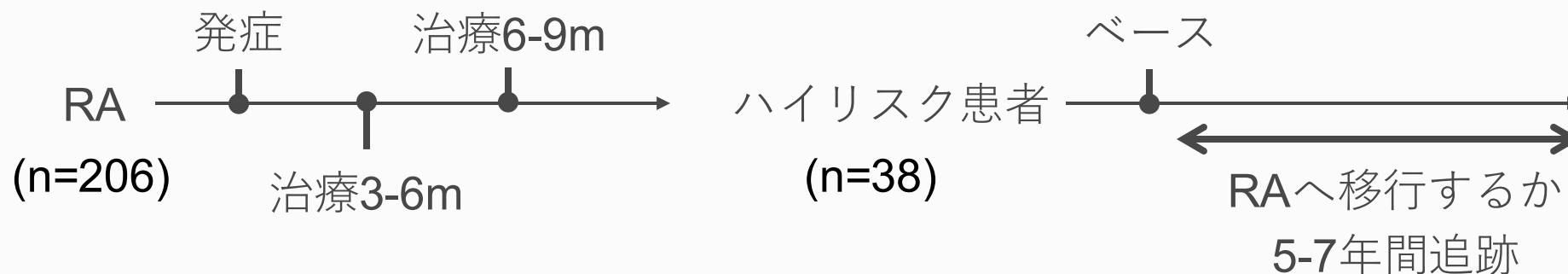
- DAVID²: 蛋白質や遺伝子を生物学的な意味に応じてまとめてくれるWebサービス
- プロテオーム解析: 蛋白質を見る解析手法.
- 電気化学発光免疫測定法: 抗原-抗体複合体に電気をかけて発光させ, その光の強さで濃度を読む免疫測定法

1. Ann Rheum Dis. 2012;71:638.

2. <https://davidbioinformatics.nih.gov/>

方法 2

- 一部の患者では縦断的に評価して治療反応性(MTX+レフルノミド, MTX+HCQ)や発症を追跡.



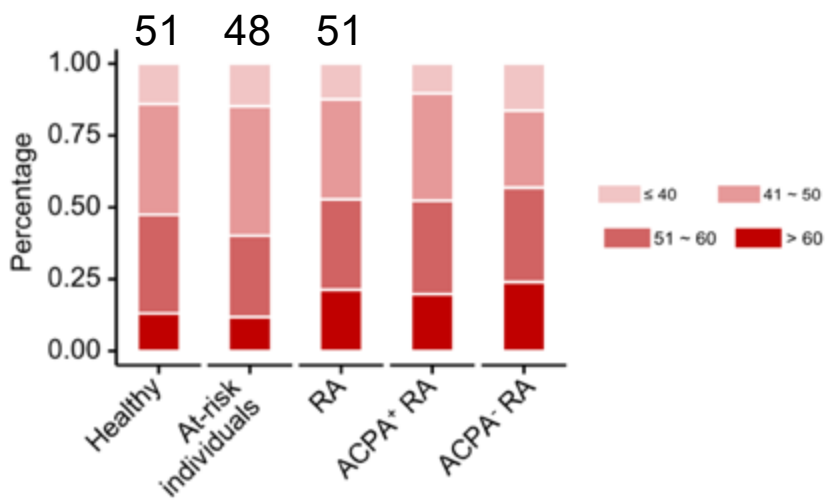
- 治療反応性を予測するモデルを構築するために機械学習*を行った.
 - ロジスティック回帰(LASSO正則化).
 - 10回分割交差検証を100回施行して重要な蛋白を選び,ROC-AUCで評価.
 - モデルに投入した検体とは異なる, 検証セットの血漿検体を使用. 機械学習で選択された蛋白をELISAで測定して検証.

■ 機械学習(の大雑把な説明)

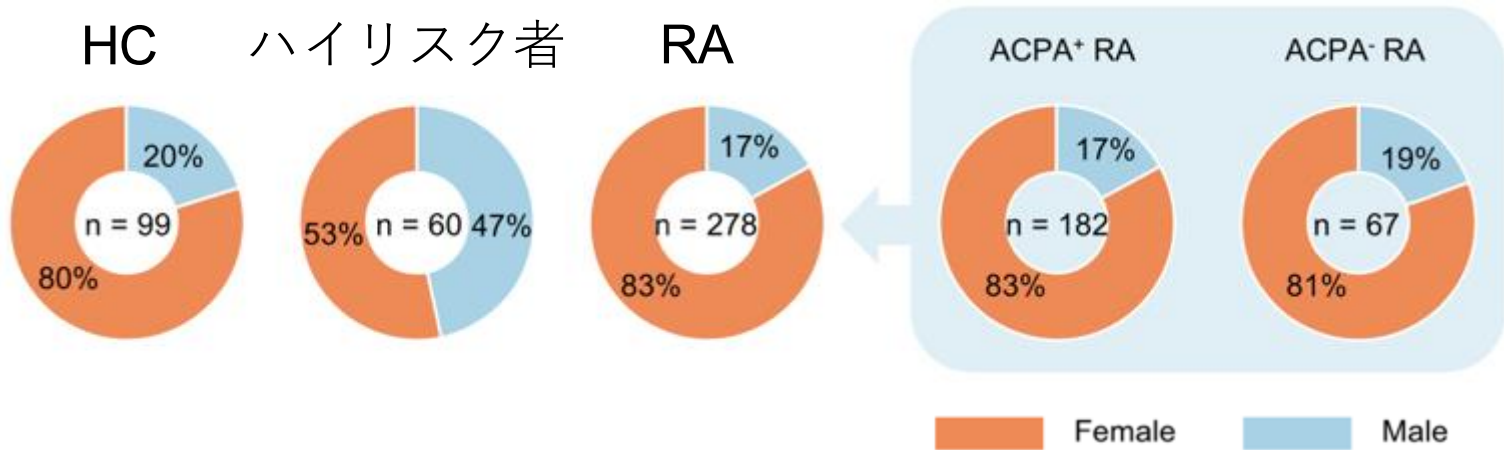
- ロジスティック回帰: 分類を予測する線形モデルの1つ. 過学習しにくく, 解釈もしやすい.
- 過学習(例 過去問は満点を取れるけど, 実際の試験では全然点数を取れない)を防ぐために罰則(正則化)や, 何回も検証する.
- LASSO正則化: 重要でない特徴は0にする.

結果1: 患者背景

年齢(平均)



性別

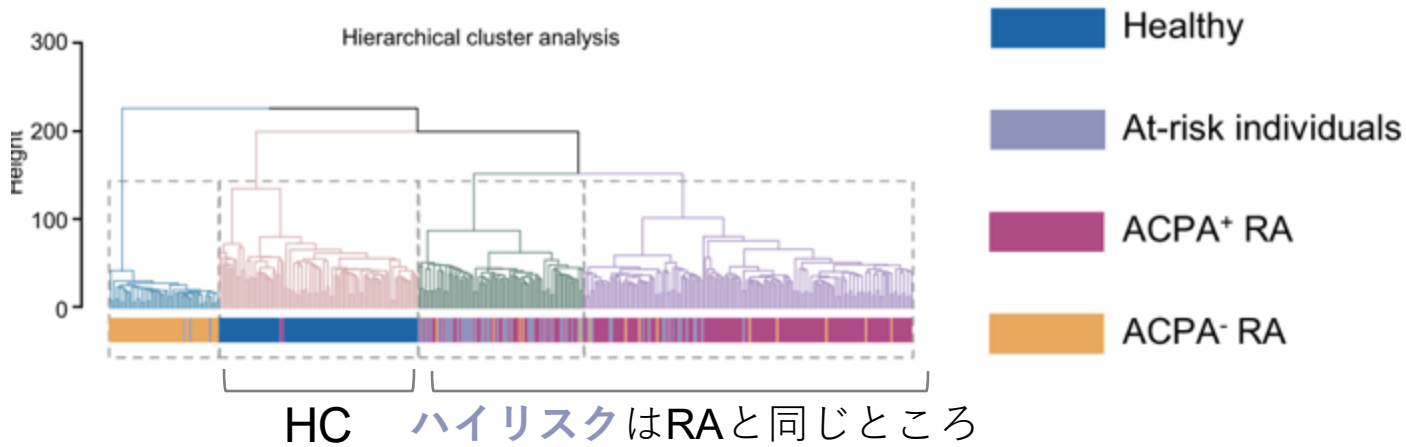


疾患活動性

	RA(278)	aCCP+(182)	aCCP-(67)	aCCP 不明 (29)	ハイリスク
DAS28-CRP	3.53(1.24-8.39)	3.71(1.40-8.39)	3.07(1.24-7.55)	3.50(1.78-5.76)	-
Disease Activity Level [§]					-
Clinical Remission	71(25.5%)	34(18.7%)	29(43.3%)	8(27.6%)	-
Low Disease Activity [§]	51(18.3%)	37(20.3%)	11(16.4%)	3(10.3%)	-
Moderate Disease Activity	106(38.1%)	80(44.0%)	18(26.9%)	8(27.6%)	-
High Disease Activity	36(12.9%)	24(13.2%)	8(11.9%)	4(13.8%)	-
Missing value	14(5.0%)	7(3.8%)	1(1.5%)	6(20.7%)	-
CRP (mg/L)	14.58(1.00-197.00)	14.70(1.00-197.00)	16.47(1.19-151.00)	8.24(1.15-25.80)	-
Tender Joints In 28-Joint Count	5(0-28)	6(0-28)	4(0-24)	6(0-28)	0
Swollen Joints In 28-Joint Count	2(0-28)	2(0-28)	2(0-22)	2(0-10)	0
Visual Analog Scale	42(0-100)	46(0-100)	31(0-80)	43(0-100)	0

結果2: RA, ハイリスク者, 健常人は異なる proteome を持つ

■ 発症前の時点で健常者と異なる

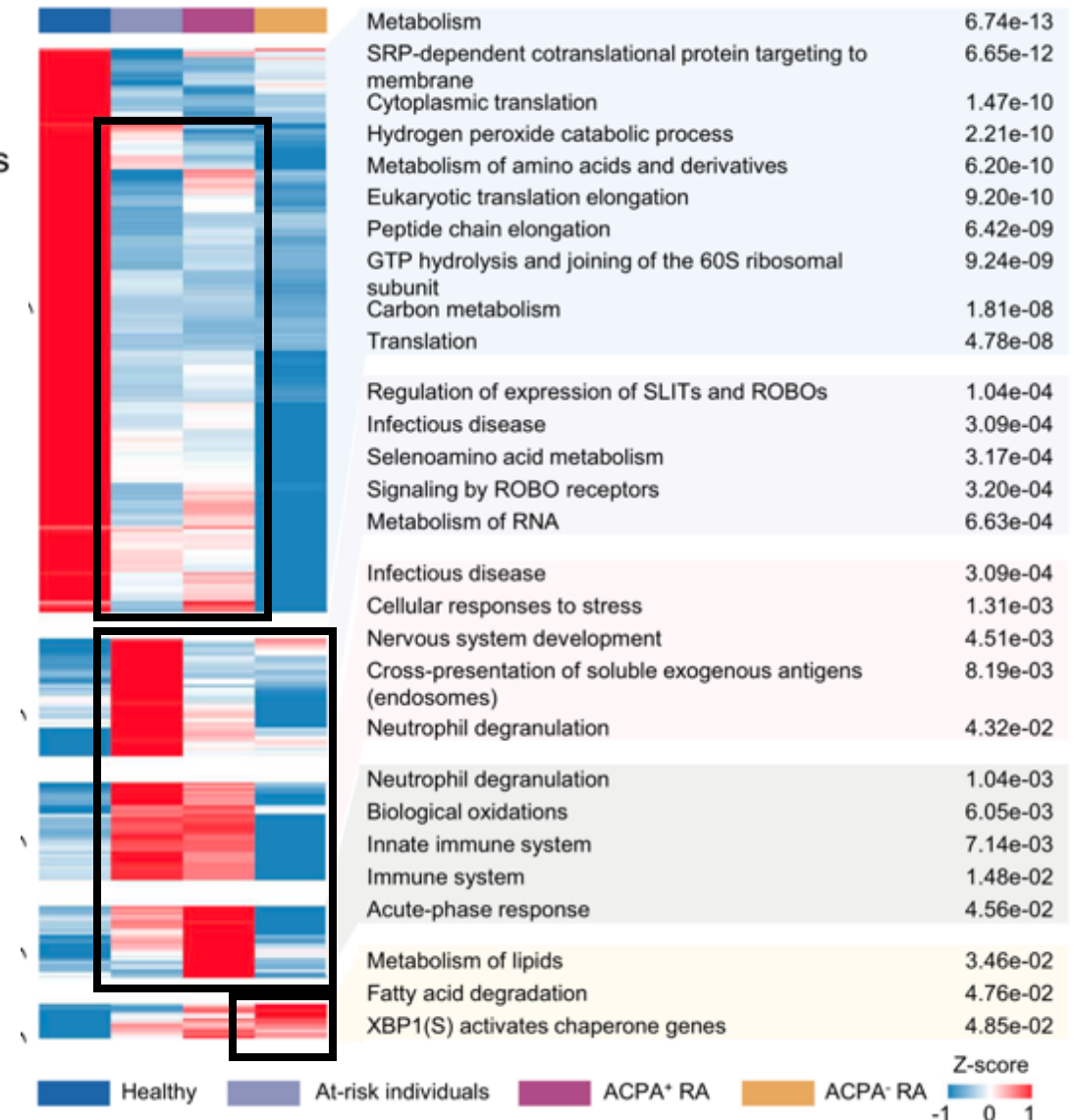


■ aCCP+RAとハイリスク者

- 似たような経路が変動している(上方も下方も).
- aCCP+RAはハイリスク者より免疫応答が強い.

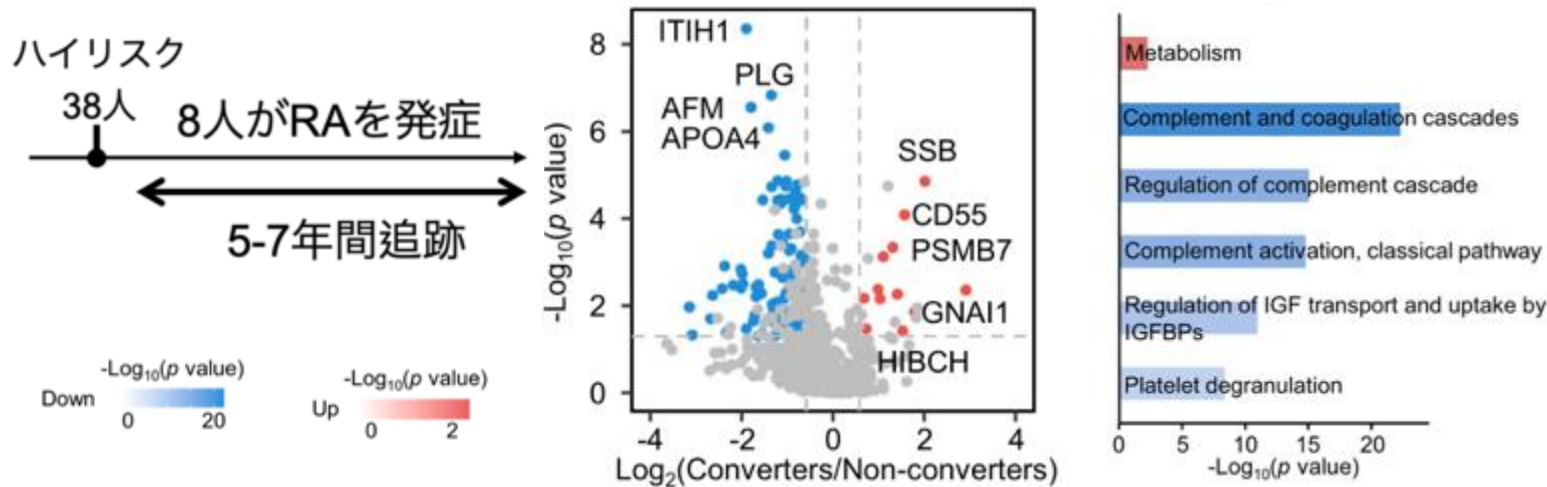
■ RAにおける, aCCP抗体の有無による違い

- aCCP陽性の方が炎症に関わる経路が強く亢進.
DAS28-CRPで補正しても同様.
- aCCP陰性者では脂質代謝が亢進.



結果3: RAになるハイリスク者は非進展者と異なるproteomeを持つ

発症後血漿におけるproteomeの相違(比較: 非発症者)

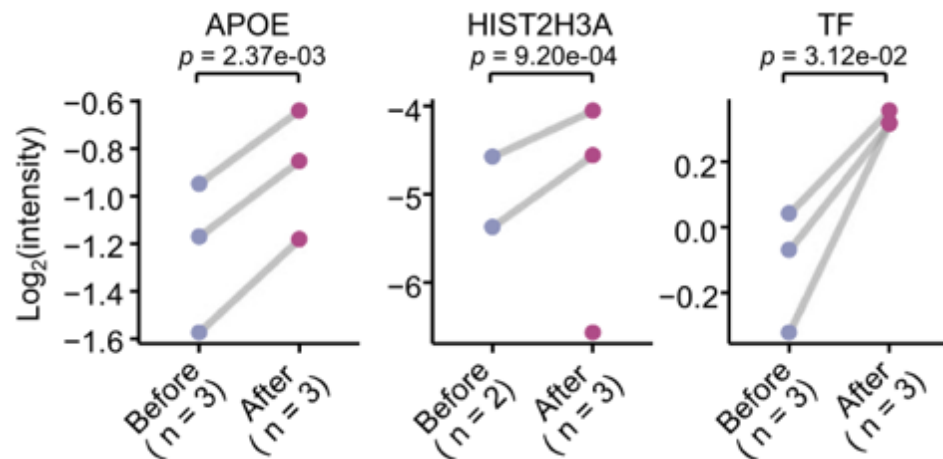


代謝亢進 HIBCH↑, GNAI1↑

補体低下(免疫複合体形成を示唆)
ITIH1↓, PLG↓

*発症率21.1%で既報と概ね同じ
Ann Rheum Dis;70:128-133.

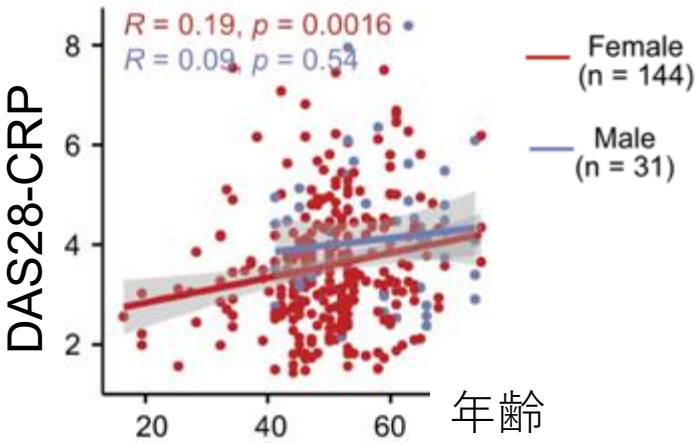
発症前後での血漿におけるproteomeの相違(n=3)



- APOE: 脂質代謝異常に重要.
- HIST2H3A: NET形成に重要.
- TF(トランスフェリン): 鉄代謝

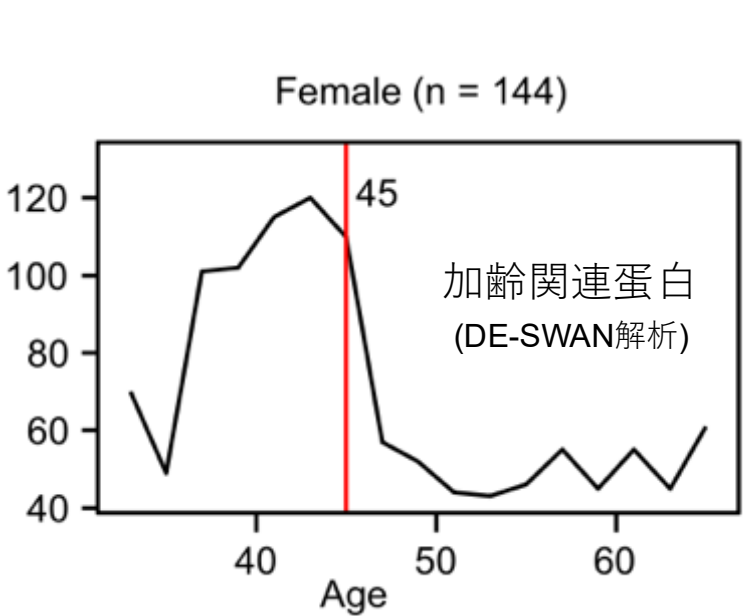
結果4: aCCP抗体陽性RA女性は45歳以上で活動性が高くなる

抗CCP抗体陽性RAにおける, 性別/年齢による活動性の違い



- 女性では年齢と疾患活動性に相関あり.
- 45歳をすぎると加齢関連蛋白*↓, 疾患活動性↑.
- 抗体陰性者ではこのような傾向はなかった.

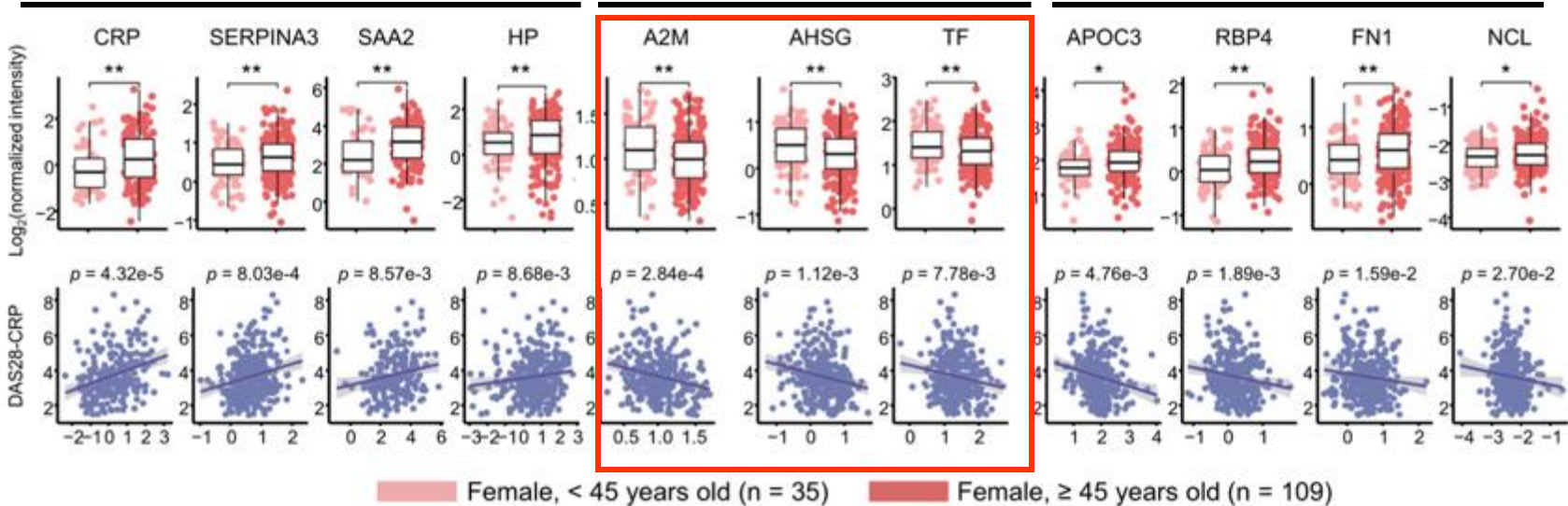
* CRP, SERPINA3, SAA, HP(ハプトグロビン), A2M, AHSG, TF(トランスフェリン)



活動性にあわせて↑
(急性期炎症蛋白全般)

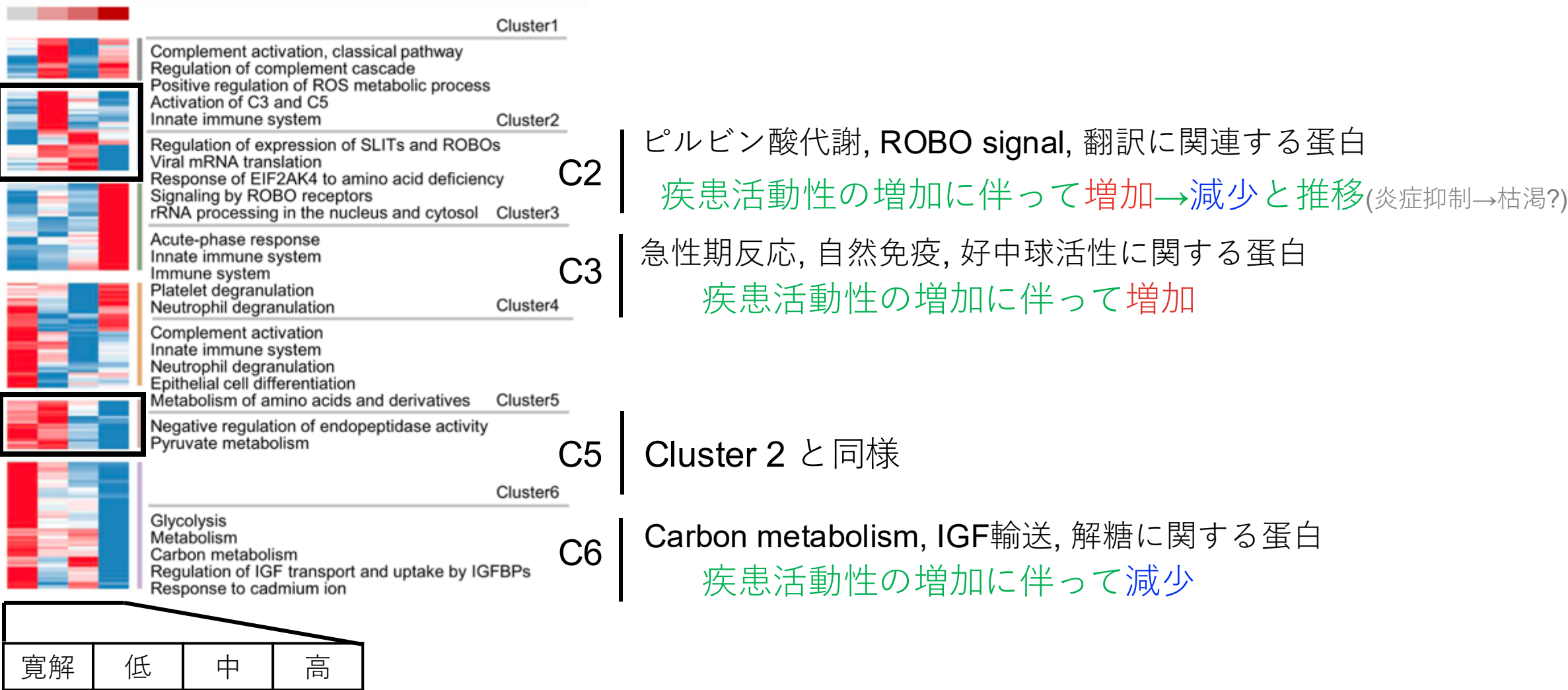
加齢/活動性とともに↓

加齢で↑, 活動性とともに↓
(保護的な因子?)



結果5: 疾患活動性とproteomeの関係は単純な線形相関ではない

抗CCP抗体陽性RAにおける, 疾患活動性とproteomeの増減



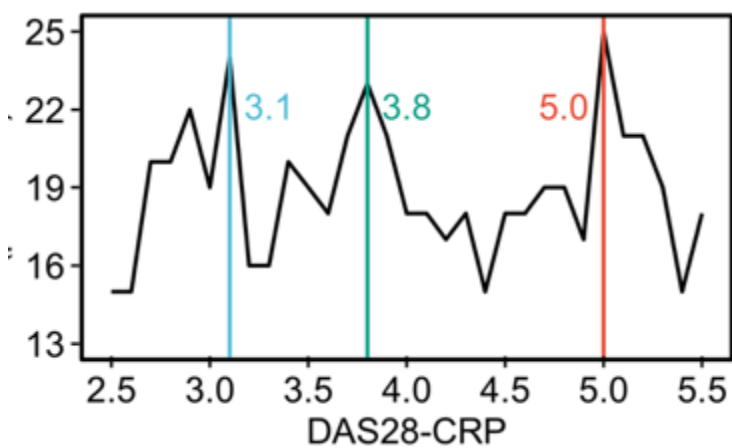
疾患活動性

*DAS28-CRP: remission(<2.6), low(2.6-3.2), **moderate(3.2-5.1), High(>5.1)., 教師なしクラスタリング. ROBO: Neu/monoの遊走を抑制.

結果6: 疾患活動性ごとに, 異なるproteomeが治療標的となりうる

抗CCP抗体陽性RAでは, 疾患活動性ごとに重要な蛋白は異なる

DAS28-CRPの異なる3値で重要蛋白が多, 各値で重要蛋白が異なる (DE-SWAN解析)



Overlap between significant proteins at three DE-SWAN points



DAS28-CRP	重要な経路
3.1	自然免疫系↑, anterograde transport↓
3.8	炎症経路↑↑, 糖代謝↓
5.0	酸化ストレス↑, ROBOシグナル/蛋白代謝↓

自然免疫系: NETs, 補体
炎症性サイトカインは低い

高炎症による酸化ストレス
血管透過性亢進/リンパ球浸潤
蛋白代謝の低下



結果7: 治療反応性患者におけるproteome

条件を満たす追跡データを使用可能なRAを選択

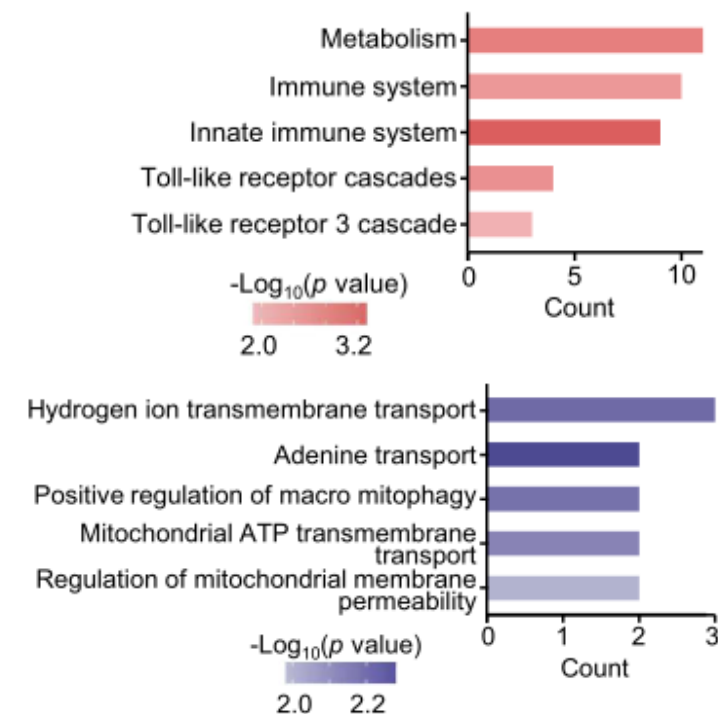
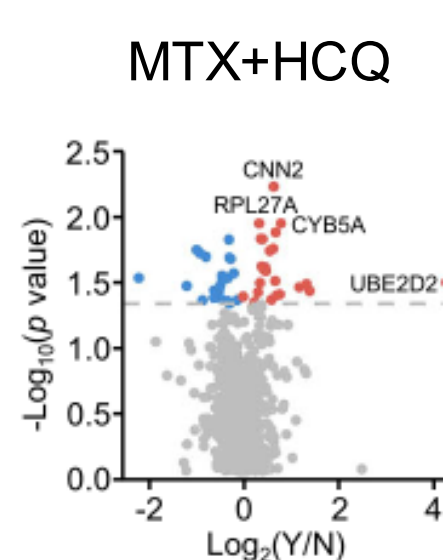
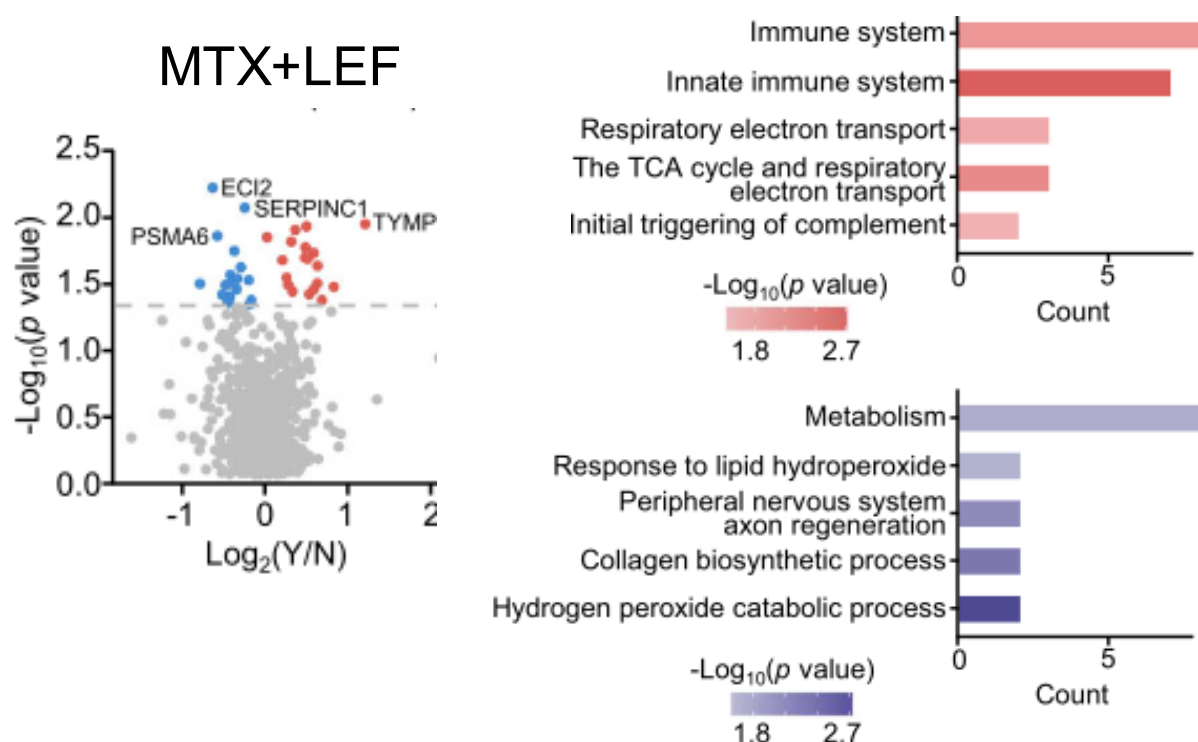
1. CCP抗体の有無によらない
2. 統計学的にサンプルサイズが十分
3. 中-高疾患活動性



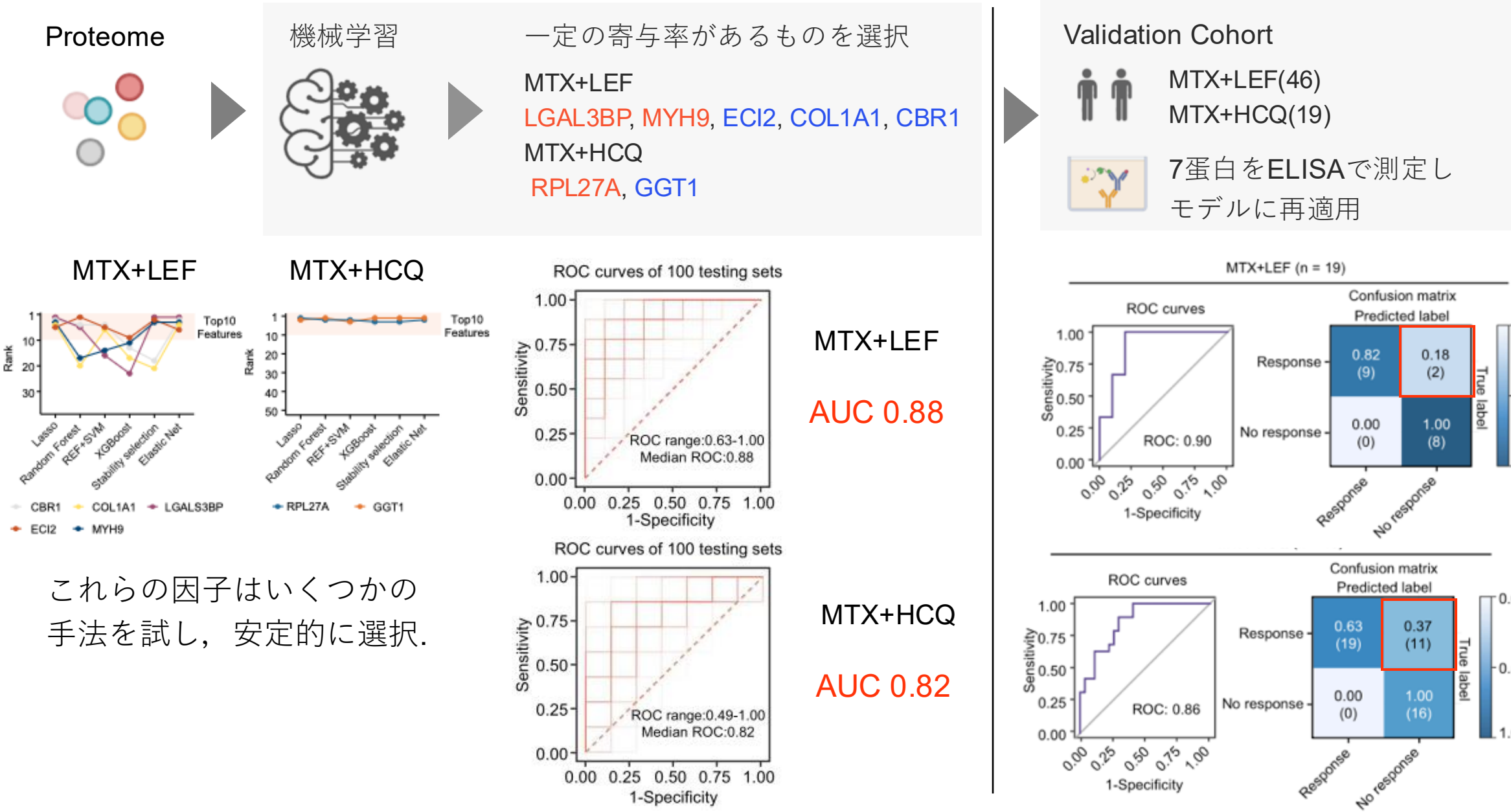
MTX+LEF(53), MTX+HCQ(38)の2群を選択.

*治療への反応の有無は年齢/性別と無関係であった.

反応者で増加/減少しているproteome(比較: 非反応者)



結果8: 治療反応性を予測するモデルの作成と検証

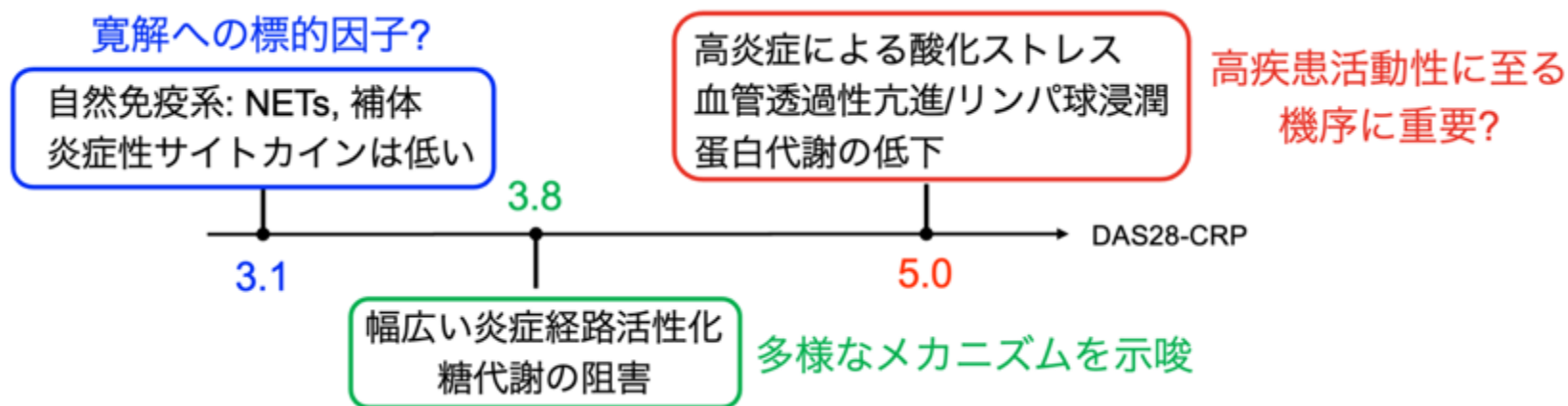


これらの因子はいくつかの手法を試し、安定的に選択.

考察

本研究のポイント

- 高リスク因子を持っている集団では、発症前からRAに近いproteomeを持っている.
- 疾患活動性とproteomeは単なる相関関係ではない(活動性ごとに重要な蛋白が異なる).
- 特定の蛋白セットにより, csDMARDsへの治療反応性をある程度予測できた(治療層別化).



- Bioの反応性は?
- 薬剤ごとのproteome変化?
- リスク因子ごとには?

本研究の強みと弱み

- 強み: 過去の研究に比較して多いn数で検証, proteomeによるモデルの提示.
- 弱み: 関節局所は見えていない, 血清反応陰性RAについての検討は少ない, 機械学習としてはn数が少ない, 長期追跡できたn数は少ない.